

УДК 615.012

УДОСКОНАЛЕННЯ БІОТЕХНОЛОГІЇ ПРОЦЕСУ ВИРОБНИЦТВА ВАКЦИНИ ДЛЯ ПРОФІЛАКТИКИ РОТАВІРУСНОЇ ІНФЕКЦІЇ

С.О. БУРИЙ^{1*}, Ю.М. КРАСНОПОЛЬСЬКИЙ², О.М. ОГУРЦОВ³

¹ магістрант кафедри біотехнології, біофізики та аналітичної хімії, НТУ «ХПІ», Харків, УКРАЇНА

² професор кафедри біотехнології, біофізики та аналітичної хімії, д-р фарм. наук, НТУ «ХПІ», Харків, УКРАЇНА

³ завідувач кафедри біотехнології, біофізики та аналітичної хімії, д-р. фіз.-мат. наук, проф., НТУ «ХПІ», Харків, УКРАЇНА

* email: sergii.buriy@ukr.net

Ротавірусна інфекція є однією з форм гострої кишкової інфекції, збудником якої є ротавірус з сімейства *Reoviridae* (сімейство без оболонкових ікосаедричних вірусів).

Після проходження через шлунок ротавіруси надходять в тонкий кишечник і проникають в клітини миготливого епітелію. Їх реплікація відбувається в цитоплазмі ентероцитів. Під дією вірусних білків та ентеротоксину NSP4 пошкоджується цитоскелет мікроворсинок, порушується синтез травних ферментів, всмоктування води, посилюється секреція хлоридів, розвивається локальне запалення стінки кишечника. Активне розмноження ротавірусів призводить до руйнування епітеліальних клітин. Порушується всмоктування води і електролітів, посилюється перистальтика, розвивається діарея. Клінічні прояви ротавірусу можуть бути самими різними – від безсимптомних і легких варіантів, до важких форм хвороби з лихоманкою понад 39 °С, інтоксикацією, болями в животі, масивної діареєю, блювотою і електролітними порушеннями [1].

Беручи до уваги високу контагіозність ротавірусної інфекції, широке розповсюдження, відсутність специфічних засобів лікування, необхідне проведення ефективної профілактики даного захворювання. Єдиним дієвим методом профілактики ротавірусного гастроентериту є вакцинація. Тому розробка ефективної вакцини проти ротавірусної інфекції – актуальне питання сьогодення.

Геном ротавірусу включає 11 сегментів дволанцюгової РНК. Кожний сегмент кодує свій білок: 6 структурних білків, які формують основні елементи вірусної частини (VP) та 6 неструктурних білків, які забезпечують реплікацію, проникнення та пошкодження ентероцитів, а також взаємодію вірусу з імунною системою організму власника.

Метою роботи стало удосконалення існуючої технології отримання вакцини для профілактики ротавірусної інфекції. Тому запропоновано замість традиційного вакцинного штаму використовувати гібридний білок (рис. 1), що складається з двох імуногенних епітопів білків VP6 та VP8, який має високу

фармацевтичну чистоту та не несе функції природних білків ротавірусу (наприклад, гомоглютинуюча активність – здатність вірусу викликати аглютинацію, тобто склеювання та випадіння в осад бактерій, еритроцитів та інших клітин, які несуть антитіла) Крім того, головною перевагою гібридного білка є можливість захисту новонародженої дитини, шляхом імунізації матері вакциною на основі гібридного білка, який викликає вироблення нейтралізуючих антитіл, які разом з молоком потрапляють до організму дитини, викликаючи захист від ротавірусу [2].

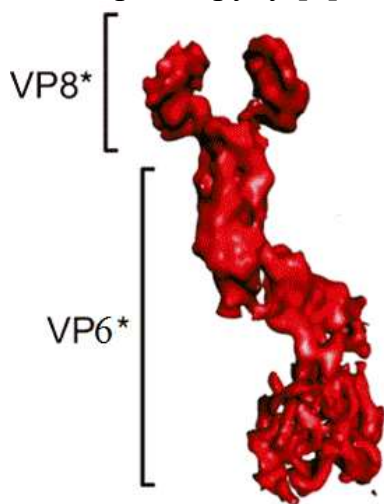


Рис. 1 – Структура гібридного білка

Схема одержання протиротавірусної вакцини складається з наступних етапів: спочатку проводилося культивування клітин *E. coli*, що містить плазміди з закодованим в них рекомбінантним білком, протягом 10 днів при температурі 28–30 °С на качалках при 150 – 200 об/хв, осаджування клітин центрифугуванням протягом 6 хвилин при температурі 10 °С при 5000 об/хв, руйнування клітин ультразвуком. Далі проводилося осаджування тілець включення з використанням центрифугування протягом 20 хвилин при температурі 10 °С та відмивання з послідовною зміною декількох буферів (50 мМ Na₂HPO₄, 0,5 М NaCl, рН 7,0). Після 5 відмивок проводили солюбілізацію (розчинення) білка розчином, що містить гуанідин гідрохлорид. Потім білковий розчин очищали методом гел'фільтрації та фільтрували через ПВДФ (полівінілдендифторид) фільтр з діаметром пор 0,22 мкм [2].

Запропонована схема отримання протиротавірусної вакцини дозволяє: знизити час виробництва вакцини, збільшити вихід готового продукту, запобігти ризики, що пов'язані з введенням вірусу в організм, хоча й атенуйованого, отримати вакцину з високою імуногенністю, що, в свою чергу, підвищує ефективність вакцини та зменшує її собівартість.

Список літератури:

1. Бурий С.О. Біотехнологія процесу виробництва вакцини для профілактики ротавірусної інфекції : дипл. проект / С. О. Бурий. – Харків, 2019. – 90 с.
2. Пат. 2539913 Российская Федерация. Вакцина для профилактики и лечения ротавирусной инфекции, содержащая гибридный белок в качестве активного агента / Духовлинов И.В. – № 2013122473; заявл. 15.05.2013; опубл. 27.01.2015.